

小鼠中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)ELISA KIT

英文名称: Mouse(MANF)ELISA KIT

规格: 96T

货号: NLM413

尊敬的客户:

感谢您选用本公司 ELISA 系列产品。本产品选用世界著名生产厂家的原料, 采用专业体外诊断试剂生产技术制造, 仅供科研使用。本试剂盒用于测定小鼠小鼠血清、血浆及相关液体样本中中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)含量, 具体适用样本请咨询。使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分如有疑问, 请咨询: 武汉纽莱生物科技有限公司 Email:sale@newlif.com.cn 电话: 027-65563553

本试剂盒仅供体外研究使用, 不用于临床诊断。

实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中小鼠中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)水平。用纯化的小鼠中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)，再与 HRP 标记的中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)抗体结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度 (OD 值)，通过标准曲线计算样品中小鼠中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)浓度。

用途：本试剂盒用于测定小鼠血清、血浆及相关液体样本中中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)含量。

基本性能：

性能	
灵敏度	0.5pg/mL
检测范围	2pg/mL -85pg/mL
特异性	可检测样本中小鼠中脑星形胶质细胞来源神经营养因子(MANF)浓度。且与其他类似物无明显交叉反应
重复性	板内，板间变异系数均《10%

试剂盒组成及保存

中文名称	规格	开封后保存条件
ELISA 酶标板	96T: 8 孔×12 条 48T: 8 孔×6 条	2-8℃ 90天
标准品	96T: 0.5mlx1 (160pg/mL) 48T: 0.25mlx1	2-8℃ 90天
HRP标记抗体	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 90天
样品稀释液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天
标准品稀释液	96T: 1.5mlx1 48T: 1mlx1	2-8℃ 180天
显色剂A	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
显色剂B	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃(避光) 180天
终止液	96T: 6mlx1 48T: 3mlx1	2-8℃ 180天 180天
30倍浓缩洗涤液	96T: 20mlx1 48T: 10mlx1	2-8℃ 180天 180天
说明书	1份	
封板膜	2张	
密封袋	1个	

说明：未拆封的试剂盒可以在2-8℃ 保存六个月

试剂盒所需自备物品

1. 酶标仪(450nm波长滤光片)
2. 高精度移液器，EP管及一次性吸头：0.5-10μL, 2-20μL, 20-200μL, 200-1000μL
3. 37℃恒温箱
4. 双蒸水或去离子水
5. 吸水纸
6. 加样槽

样品收集方法（具体处理方法请咨询）

- 1.血清：**用无菌管收集，室温血液自然凝固10-20分钟，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分）仔细收集上清，保存过程中如出现沉淀，应再次离心。
- 2.血浆：**应根据标本的要求选择EDTA、肝素钠或柠檬酸钠作为抗凝剂，混合10-20分钟后，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分），仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成应该再次离心。
- 3.尿液：**用无菌管收集，2-8℃条件离心20分钟左右（2000-3000转/分）。仔细收集上清，保存过程中如有沉淀形成，应再次离心。
- 4.组织匀浆：**用预冷的PBS (0.01M, pH=7.4)冲洗组织，去除残留血液，称重后将剪碎的组织与对应体积的PBS(一般按1:9的重量体积比，比如1 g的组织样品对应9 mL的PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂)加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行反复冻融或超声破碎。最后将匀浆液于2-8℃，5000×g离心5-10分钟取上清检测。
- 5.细胞提取液：**贴壁细胞用冷的PBS轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化，1000×g离心5分钟后收集细胞。悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的PBS洗涤3次。每10⁶个细胞中加入150-200 μL PBS重悬(推荐在PBS中加入蛋白酶抑制剂；若含量很低可减少PBS的体积)并通过反复冻融或超声使细胞破碎。将提取液于2-8℃，1500×g离心10分钟，取上清检测。
- 6.细胞培养上清或其他生物体液：**收集液体后于2-8℃，1000×g离心20分钟，除去杂质及细胞碎片，取上清检测。

试剂盒注意事项

- 1.试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡15-30分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
- 2.浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
- 3.各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在5分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
- 4.请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本OD值大于标准品孔第一孔的OD值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（n倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（n×5）
- 5.封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
- 6.底物请避光保存。
- 7.严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准。
- 8.所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
- 9.本试剂不同批号组分不得混用。

样本收集注意事项

- 1.不能检测含NaN₃的样品，因NaN₃抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。
- 2.标本采集后尽快进行实验，若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融。
- 3.我们罗列的是通用的样本处理方法，无法涵盖各种样本，对于一些特殊样本，建议实验人员多参考已发表的文献，自行设计合理的样本处理方法。

检测前准备工作

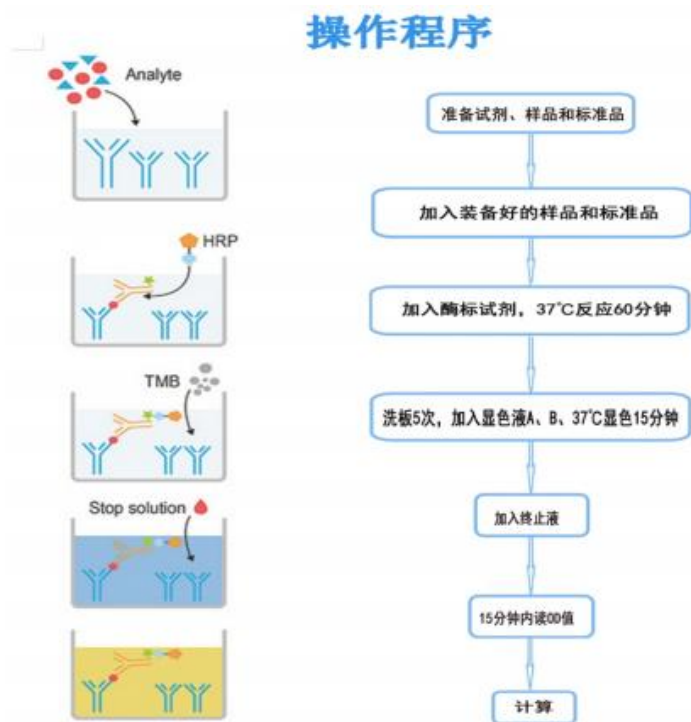
- 1.请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温。
- 2.用双蒸水将30×浓缩洗涤液稀释成1×工作液。未用完的放回4℃。
- 3.标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

80pg/mL	5号标准品	150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液
40pg/mL	4号标准品	150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
20pg/mL	3号标准品	150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
10pg/mL	2号标准品	150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
5pg/mL	1号标准品	150μl 的 2 号标准品加入 150μl 标准品稀释液

操作步骤

- 1.加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50 μ l，待测样品孔中先加样品稀释液 40 μ l，然后再加待测样品 10 μ l（样品最终稀释度为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。
- 2.温育：用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。
- 3.洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
- 4.加酶：每孔加入酶标试剂 50 μ l，空白孔除外。
- 5.温育：操作同 2
- 6.洗涤：操作同 3
- 7.显色：每孔先加入显色剂 A 50 μ l，再加入显色剂 B 50 μ l，轻轻震荡混匀，37 $^{\circ}$ C 避光显色 10 分钟。
- 8.终止：每孔加终止液 50 μ l，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
- 9.测定：以空白孔调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

操作一览表



结果判断:

- 1.每个标准品和标本的OD 值应减去空白孔的OD 值。
- 2.以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，利用计算机软件采用直线回归的拟合方法创建标准曲线方程，通过样本的吸光度（OD值），利用方程计算样品的浓度值。
- 3.若样本的OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。

典型数据

由于实验操作条件的不同（如操作者、移液技术、洗板技术和稳定条件等），标准曲线的OD值会有所差异。详情请看质检报告。